

Aus dem Hygiene-Institut (Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe)
und der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Prof. Dr. Dr. M. Herrmann)
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

Langfristige Untersuchungen über das Vorkommen von Laktobazillen im Rattenspeichel

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität
Mainz

vorgelegt von
Karlheinz Döhn
Zahnarzt aus Cochem/Mosel
1959

Aus dem Hygiene-Institut (Direktor: Prof. Dr. H. Kiewe)
und der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
(Direktor: Prof. Dr. Dr. M. Herrmann)
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

Langfristige Untersuchungen über das Vorkommen von Laktobazillen im Rattenspeichel

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität
Mainz

vorgelegt von
Karlheinz Döhn
Zahnarzt aus Cochem/Mosel
1959



Dekan : Prof. Dr.H. Leicher
Referent : Prof. Dr.Th. Lammers
Korreferent : Prof. Dr.J. Kluczka

Datum des Diploms 22. Juli 1959

Meinen Eltern

1902
SEP 10
K 11



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Die Bedeutung der Laktobazillen für die Kariesgenese	5
II. Anlegung und Auswertung von Karies- tests mit menschlichem Speichel	
1. Zur Methodik der Kariestests beim Menschen	6
a. Der Laktobazillus - Index	7
b. Der SL - Test	14
c. Der Snyder - Test	16
2. Klinisch bedeutsame Aussagen der Kariestests	18
III. Langfristige Untersuchungen über den Ausfall der Kariestests bei der kariesfreien Ratte	19
1. Untersuchungsmethodik	
a. Speichelentnahme	19
b. Verarbeitung auf Nährböden	20
c. Klinische und histologische Beur- teilung der Kariesaktivität	22
2. Untersuchungsergebnisse	22
3. Diskussion der erzielten Unter- suchungsergebnisse	34
IV. Zusammenfassung	38
Literaturverzeichnis	40

I. Die Bedeutung der Laktobazillen für die Kariesgenese

Die Kariesforschung der letzten Jahrzehnte hat ihr Schwergewicht vom Menschen auf das Versuchstier gelegt. Besonders die weisse Ratte (*rattus norvegicus albinus*) wurde zum wichtigsten Tier der Kariesforschung, nachdem es möglich geworden war, durch eine entsprechende Diät eine Karies zu erzeugen, die im wesentlichen der menschlichen Karies entspricht.

So hat die tierexperimentelle Erforschung der Karies beweisen können, dass es ohne Bakterien keine Zahnkaries gibt, wie es die keimfreie Aufzucht von Versuchstieren durch O r l a n d , B l a y n e y und H a r r i s o n (21)⁺ bestätigt.

Dennoch wurde in der tierexperimentellen Kariesforschung weniger Wert auf eine Differenzierung der Speichelbakterien gelegt, während bei der Erforschung der menschlichen Karies in jüngerer Zeit die Erforschung der Ursachen getreten ist, die bestimmten Mikroben eine stärkere Vermehrung im Speichel und im Zahnbelag möglich machen.

Im wesentlichen hat sich dabei herauskristallisiert, dass durch das Vorhandensein vergärbbarer Substrate und einer Ansäuerung des Speichelmilieus stark säuretolerante Bakterien, die sogenannten Acidophilus-Bakterien (im anglo-amerikanischen Schrifttum als Laktobazillen bezeichnet), sich elektiv stark vermehren.

Im Hinblick auf das Entstehen von Gärungssäuren sind unterschiedliche Typen von Streptokokken und Hefen Symbionten der Milchsäurestäbchen (6, 16, 19 und 33). L a m m e r s (17) spricht in diesem

+) Die Zahlen verweisen auf, das Literaturverzeichnis.

Zusammenhang von einer kariogenen Mundflora und zählt dazu alle Bakterien, die sich im sauren Milieu unter Bildung von Gärungssäuren vermehren.

So wurden in jüngerer Zeit als Kriterium der Kariesaktivität sogenannte Kariestests entwickelt, mit denen eine stärkere Vermehrung von Milchsäurestäbchen bzw. Streptokokken im Speichel eruiert werden kann.

Zwischen dem Ausfall dieser Tests und der klinischen Kariesaktivität bestehen Zusammenhänge, die allerdings von den einzelnen Autoren noch unterschiedlich beurteilt werden. Die Brauchbarkeit dieser Tests für die Beurteilung der Kariesaktivität des Versuchstieres wurde auch schon gelegentlich erörtert, es fehlen aber Unterlagen darüber, ob nicht auch beim kariesfreien Tier die "Kariestests" gelegentlich positiv ausfallen können, was z.B. von Untersuchungen an Hamstern bekannt ist (9).

Um nun die Brauchbarkeit der "Kariestests" bei der Ratte als Versuchstier der Kariesforschung beurteilen zu können, fehlten bisher langfristige Untersuchungen über den Ausfall dieser Tests beim kariesfreien Versuchstier.

Zunächst müssen wir auf die "Kariestests" und ihre Aussagen, wie sie aus Ergebnissen der Erforschung der menschlichen Zahnkaries vorliegen, näher eingehen.

II. Anlegung und Auswertung von Kariestests mit menschlichem Speichel

1. Zur Methodik der Kariestests beim Menschen

Methoden, die durch Messung der mikrobiologischen Verhältnisse des Zahnbelags und der Mundhöhle die Kariesanfälligkeit zu ermitteln suchen, wurden in den letzten Jahrzehnten entwickelt. Während die klinische

Beurteilung der Gesundheit der Zähne ein Kriterium dafür darstellt, wie sich die Anfälligkeit für Karies in einem bereits abgelaufenen Zeitraum verhielt, ermöglichen die in jüngerer Zeit entwickelten Tests eine Beurteilung der momentan bestehenden Disposition. Bedeutsam sind sie besonders deswegen, weil sie den Einfluss unterschiedlicher Faktoren auf die Kariesresistenz bzw. -anfälligkeit rascher und sicherer objektivieren, als es die klinische Beurteilung vermag.

Moderne Tests für den Grad einer bestehenden Kariesanfälligkeit legen die Intensität der kariogenen Noxe in der Mundhöhle des einzelnen Menschen entweder durch Bestimmung der mikrobiologischen Speichelverhältnisse oder durch die Bestimmung der säureproduzierenden Kraft von Speichelbakterien bzw. Bakterien im Zahnfilm fest (18).

a. Der Laktobazillus-Index

Da die qualitative Auswertung der Speichelflora nur wenig oder nichts über den Gesundheitszustand der Mundhöhle auszusagen vermag, stellten amerikanische Forscher schon seit längerer Zeit quantitative Gesichtspunkte bei der Beurteilung der oralen Laktobazillenflora im Hinblick auf die Kariesanfälligkeit in den Vordergrund.

G o a d b y (1910), B a u m g a r t n e r (1913), K l i g l e r (1915), H a r t z e l l und H e n r i c i (1917), H o w e und H a t c h (1917), S e i t z (1921), R o s e b u r y, L i n t o n und D e l v e s (1930), H e w i t t und v a n M e t e r (1930) bilden die Hauptgruppe der Forscher, die als erste eine Korrelation zwischen dem zahlenmässigen Auftreten von Laktobazillen im Speichel und der Kariesanfälligkeit beobachteten (38).

R o d r i g u e z (24) fand Laktobazillen bei kariesanfälligen Personen in grosser Zahl, sowohl in der kariösen Läsion selbst, wie auch im Speichel. Die Laktobazillenzahl zeigte bei Jugendlichen im Alter von 6-17 Jahren Schwankungen zwischen 5 000 000 bis 81 000 000 und bei Erwachsenen im Alter von 18 bis 50 Jahren Werte von 10 000 bis zu 6 000 000.

H a d l e y (7) zählte bei kariesanfälligen Kindern einen Durchschnitt von 60 000 Laktobazillen in 1 ml Speichel, wogegen bei kariesfreien Kindern durchschnittlich 600 Milchsäurestäbchen gezählt wurden.

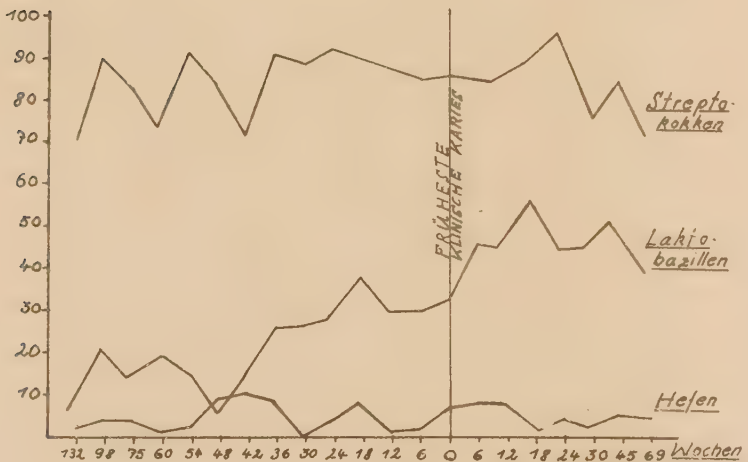
1933 bestätigen J a y, C r o w l e y, H a d l e y und B u n t i n g (11) in einem zusammenfassenden Rückblick ihrer bakteriologischen Untersuchungen der Zahnkaries die Ergebnisse, die von ihnen und anderen in den bisherigen Versuchen erzielt wurden, dass eine enge Wechselbeziehung zwischen dem Auftreten von Laktobazillen in der Mundhöhle und der Zahnkaries insofern besteht, als hohe Laktobazillenzahlen immer mit dem Vorkommen von Karies vergesellschaftet sind, während bei Kariesresistenz Laktobazillen entweder fehlen oder nur in ganz geringer Zahl vorhanden sind.

Aus Untersuchungen an der Zahnärztlichen Hochschule in Stockholm (S t r a l f o r s) ergab sich eine ausgeprägte Korrelation zwischen Kariesaktivität und dem Vorkommen von oralen Milchsäurestäbchen. Personen mit grosser Anzahl Laktobazillen zeigten hohe Kariesaktivität (34).

H a r r i s o n (8) berichtet von bakteriologischen Untersuchungen an 85 Kindern, die alle 6 Wochen untersucht wurden. Mehr als 600 Untersuchungen wurden vor dem Auftreten der Karies und mehr als 300 Untersuchungen nach dem Auftreten der Karies durchgeführt. Die Laktobazillen waren die einzigen Organismen der Mundhöhle, die in den Wochen vor der

klinischen Feststellung der Karies in zunehmender Anzahl auftraten, und zwar zeigte die Laktobazillenkurve ein langsames Ansteigen von der 48. Woche vor dem ersten Auftreten der Karies bis zur 18. Woche danach (s. Abb. 1).

Abb. 1. Zahlenmässiges Auftreten von Laktobazillen im Speichel von 85 Kindern mit zunehmender Kariesaktivität (nach H a r r i s o n, 8 und 10)



R i z z o und T i l d e n (23) untersuchten 87 3-11 jährige Kinder ein Jahr lang und 53 Kinder zwei Jahre lang klinisch und bakteriologisch. Stärkerer Kariesbefall war mit höheren Laktobazillenzahlen vergesellschaftet.

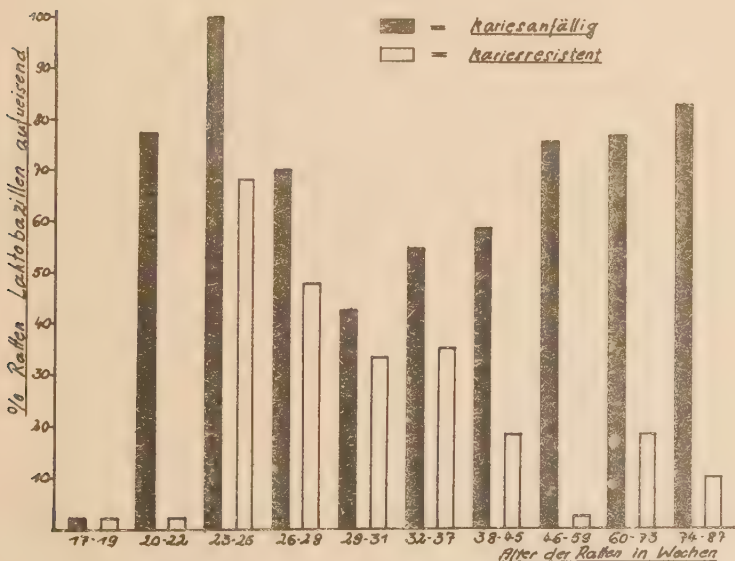
E i r i c h (4) fand im Speichel kariesanfälliger Personen ebenfalls Laktobazillen regelmässig und in grosser Zahl (50 000 bis 750 000 pro ml Speichel), dagegen bei kariesfreien keine Milchsäurestäbchen oder nur in geringer Zahl (bis 1 000/ml).

Auch Untersuchungen von K r a s s e (14) ergaben, dass sowohl im Speichel wie in den Zahnbelägen sich Laktobazillen in grösserer Zahl bei den Kariesaktiven als bei den Kariesresistenten zeigten.

Auch an Tieren wurde eine Korrelation zwischen der Keimbesiedlung der Mundhöhle und der Kariesanfälligkeit beobachtet.

J a y (12) fand bei 11 erwachsenen und bei 25 drei Wochen alten kariesanfälligen Ratten bedeutend höhere Laktobazillenzahlen (bis zu 35 000) als bei der gleichen Anzahl kariesresistenter Ratten (bis zu 2 000).

Abb.2. Auftreten von Laktobazillen bei kariesanfälligen und kariesresistenten Ratten in Abhängigkeit vom Lebensalter (nach R o s e n u. a. 28)



Auch R o s e n , B e n a r d e , H u n t und H o p p e r t (28) fanden bei Untersuchungen der Mikroflora von kariesanfälligen und kariesresistenten Ratten, dass säuretolerante Milchsäurestäbchen in der Schnauzenflora von kariesanfälligen Ratten häufiger und in grösserer Zahl vorkommen. Sie stellten ein leichtes Ansteigen der Laktobazillenzahl fest, während sich Karies in den anfälligen Ratten entwickelte. Im Gegensatz dazu stand eine allmähliche Abnahme der Laktobazillenzahl in den resistenten Ratten gleichen Alters (s. Abb. 2).

O r l a n d und R e y n i e r s (22) konnten an den Zähnen von keimfrei aufgewachsenen Tieren kariöse Läsionen beobachten, wenn die Tiere mit Laktobazillen infiziert wurden.

O r l a n d (20) untersuchte die Schnauzenflora von 179 syrischen Hamstern bei verschiedener Kost und fand auch bei dieser Tiergattung eine positive Korrelation zwischen der Zahl von Laktobazillen und der Kariesaktivität.

Um den Einfluss der Laktobazillen auf die Karies genau zu untersuchen, war es wünschenswert, einen Nährboden zu entwickeln, der selektiv für Laktobazillen der Mundhöhle ist und der ihr Wachstum begünstigt.

R o d r i g u e z (24) veröffentlichte 1930 die erste Zählung von Milchsäurestäbchen im Speichel. Er benutzte zur Überimpfung seiner Speichelproben einen Agar-Serum-Nährboden, der auf einen p_H -Wert von 7,2 eingestellt war und in einem Anaerobentopf, der 10 % CO_2 enthielt, bebrütet wurde. Die Laktobazillen wuchsen sehr gut auf der Oberfläche des Nährbodens und liessen sich von anderen Mundbakterien leicht unterscheiden.

Dieses Verfahren fand aber keine allgemeine Zustimmung, teils vielleicht, weil Pferdeserum nicht leicht in steriler Form zur Verfügung stand, und teils deshalb, weil bei diesem Verfahren unter an-

aeroben Bedingungen bebrütet wurde(23).

Der Tomatensaft-Agar von K u l p und W h i t e (15) bot die Vorteile des sterilisierbaren Materials und aerober Bebrütung.Er wurde 1933 von H a d l e y in dessen Versuche übernommen.Die einzigen Änderungen,die von H a d l e y an K u l p's Tomaten-Peptide-Agar vorgenommen wurden,war der Gebrauch von 2 % Agar anstatt der empfohlenen 1,1 % und die Einstellung auf einen p_H -Wert von 5,0 anstatt 6,2 durch Hinzufügen von Milchsäure.Es gelang dadurch, die Streptokokken wirksamer zu hemmen (7).

Die Methodik der Zählung wurde von H a d l e y zum sogenannten Laktobazillus-Index ausgebaut.Dieser Test verwendet die Zahl der Milchsäurestäbchen in 1 ml Speichel als Kriterium der momentanen Kariesdisposition.Als kariesdisponiert gelten Menschen,deren Speichel 10 000 Laktobazillen/ml und mehr enthält.

H a d l e y 's Methode wurde später von J a y und A r n o l d (23) etwas modifiziert,indem diese anstatt der Salzlösung als Verdünnungsmittel für den Speichel Glukosebouillon von p_H 5,0 nahmen und durch teilweise Neutralisation der Mischung von Tomatensaft,Pepton und peptonisierter Milch vor dem Einstellen auf einen p_H -Wert von 5,0.Die Zusammensetzung dieses von J a y abgewandelten Nährbodens ist folgende (nach L a m m e r s und H a f e r,18):

Tomatensaft	20 g
Bacto-Pepton	10 g
Bacto-peptonisierte Milch	10 g
Bacto Agar	20 g

In der Absicht,die Auszählung der Laktobazillen und Streptokokken im Speichel zu ermöglichen,benutzten D a v i e s , S l a c k und T i l d e n (3) einen Nährboden,der von W a d e , S m i l e y und B o r u f f 1946 beschrieben wurde (37). Dieses Medium war zur Differenzierung stark säure-

bildender von schwach säurebildenden Speichelbakterien sehr günstig und hatte folgende Zusammensetzung (nach L a m m e r s und H a f e r , 18) :

Tomatensaft	300 ml
Hefeextrakt	5 g
Glukose	5 g
Salze A	5 ml
Agar	30 g
1,6 % alkoholische Lösung von Bromkresolpurpur	2 ml
Aquq dest. ad	1000 ml

Salzlösung A = Lösung von je 25 g Mono- und Dikaliumphosphat in 100 ml Wasser.

Der p_H -Wert wird auf 7,0 eingestellt.

Die von H a d l e y angegebene Methode war richtungsweisend bei der Entwicklung von Untersuchungsmethoden, wie sie von L a m m e r s (16) veröffentlicht wurden. Da bei der H a d l e y schen Methode Schwankungen in der Bakterienbesiedlung des Speichels nicht berücksichtigt werden, dehnte L a m m e r s die Keimzahlbestimmung auf alle Bakterienarten des Speichels aus, die auf festen, aeroben Nährböden züchtbar sind. Im Gegensatz zu H a d l e y bezeichnete L a m m e r s das Keimverhältnis

Laktobazillen aerobe Gesamtbakterien

als Laktobazillen-Index. Hierdurch wird die Unsicherheit, die sich bei der Auswertung der Laktobazillenkeimzahl allein, infolge unterschiedlicher Beladung des Speichels mit Mikroorganismen gibt, behoben. Verhältniszahlen bis 1 : 100 sollen Kariesaktivität, zwischen 1 : 100 und 1 : 1 000 chronische Karies und über 1 : 1 000 Kariesinaktivität bedeuten.

Diesen rein bakteriologischen Untersuchungs-
methoden stehen biochemische gegenüber, welche die
Stoffwechselleistung der Mundbakterien erfassen.
Vor allem beziehen sich diese Tests auf die Messung
der von der Speichelflora in einem bestimmten Nähr-
boden gebildeten Säure. Die Säureproduktion wird
durch den Farbumschlag eines zugesetzten Indikators
angezeigt.

b. Der SL - Test

Der H a d l e y sche Tomatensaft-Agar, modifiziert
von J a y und A r n o l d (TJ-Agar genannt), war
in grossem Umfange angewandt worden. Es wurde jedoch
allgemein beobachtet, dass dieses Medium gewisse
Fehler aufweist. Während Laktobazillen auf diesem
Nährboden von anderen Mikroorganismen des Speichels
differenziert werden konnten, ist er nicht vollstän-
dig selektiv für Laktobazillen, da Hefen, Mikrokokken,
Streptokokken, Schimmelpilze, gramnegative Stäbchen,
Sporenbildner u. a. mit wechselnder Häufigkeit auf-
treten können. So konnte es schwierig und zeitraubend
sein, die Milchsäurestäbchen von einigen anderen Mi-
kroorganismen des Speichels zu differenzieren.

D i a m o n d benutzte Natriumazid in H a d -
l e y's TJ-Agar, um die Begleitflora zu hemmen.

L i c h s t e i n und S o u l e sowie R o -
g o s a und M i t c h e l l fanden in ihren Unter-
suchungen, dass dieses Verfahren unbefriedigend war,
da verschiedene Typen von Laktobazillen ebenfalls
gehemmt wurden.

1951 stellten R o g o s a , M i t c h e l l
und W i s e m a n an Hand der Untersuchungen von
2 000 Speichelproben fest, dass eine bestimmte Kon-
zentration von Phosphaten, Citraten, Acetaten, Sorbi-
tanmonooleat und der Wasserstoffionen in einem

sonst angemessenen Nährmedium der Entwicklung eines befriedigenden selektiven Nährbodens für Laktobazillen einen bedeutenden Schritt näher kam (25).

Die Zusammensetzung des sich ergebenden Mediums, als SL - Agar bezeichnet, war folgende (nach L a m m e r s und H a f e r , 18) :

Tryptikase (BBL)	10 g
Hefeextrakt (Difco)	5 g
KH_2PO_4	6g
Ammoniumcitrat	2 g
Salzlösung	5 ml
(bestehend aus: $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 11,5g, $\text{MnSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 2,4 g, oder $\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 2,86g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,68g mit aqua dest.auf 100 ml auffüllen.)	
Glukose	20 g
Sorbitanmonooleat	1 g
Natriumacetat	25 g
Eisessig (99,5 %)	1,32 ml
Agar	15 g

aqua dest. auf 1 Liter auffüllen

$\text{pH} = 5,4$

Der SL - Agar (selective Lactobacilli) misst die Säurebildung der Milchsäurestäbchen allein, weil alle anderen Mundkeime durch die Konzentration der Salze, der Wasserstoffionen und insbesondere des Sorbitanmonooleats in ihrem Wachstum gehemmt werden.

Für die Durchführung des Kariestests wird diesem Nährboden 0,05 % Arabinose und 0,004 % Alizarinrot S zugegeben, der Agargehalt wird auf 0,2% reduziert. In 5 ml des Nährmediums wird mit Speichel eine Stichkultur angelegt und anschliessend 48 Stunden bei 37 Grad C bebrütet. Die Ansäuerung des Mediums hängt von der Ausgangskeimzahl der Milchsäurestäbchen ab, die erfolgte Säuerung wird durch den Farbumschlag des

zugesetzten Indikators (Alizarinrot S) angezeigt und nach 24 und 48 Stunden abgelesen. Eine Farbänderung von rot nach gelb ist positiv (18 und 26).

Speichelproben von 150 Personen ergaben in Untersuchungen, die während eines Jahres durchgeführt wurden, eine gute Korrelation mit dem Laktobazillus-Index (26).

K e s e l (13) setzte während eines Zeitraumes von 2 Jahren an seinen Versuchspersonen die klinische Kariesaktivität, den Laktobazillus-Index, den Schmelzlöslichkeitstest (F o s d i c k) und den Säurebildungstest in Beziehung. Der Säurebildungstest korrelierte mit den übrigen Tests weitgehend.

c. Der S n y d e r - Test

Im S n y d e r - Test wird ebenfalls die Tatsache ausgenutzt, dass bestimmte Indikatorstoffe ihre Farbe mit der Wasserstoffionenkonzentration ändern.

Dieser Test-Agar hat nach L a m m e r s und H a f e r (18) folgende Zusammensetzung :

Bacto-Trypton	20 g
Dextrose	20 g
Natriumchlorid	5 g
Agar	20 g
Bromkresolgrün	0,02 g

Zur Ausführung des Tests werden 0,2 ml Speichel mit einer sterilen Pipette in ein Röhrchen mit verflüssigtem S n y d e r -Test-Agar gegeben. Der Agar wird durch 10 Minuten langes Erhitzen der Röhrchen im kochenden Wasserbad verflüssigt und dann auf 45 Grad C abgekühlt. Man mischt den Nährboden mit der Impfprobe und lässt erstarren, indem man das Röhr-

chen eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen lässt. Die beimpften, erstarrten Nährböden werden 72 Stunden bei 37 Grad C bebrütet, und der Farbumschlag des zugesetzten Indikators (Bromkresolgrün) nach 24, 48 und 72 Stunden abgelesen. Farbänderungen von Blaugrün nach Gelb werden als ++ bis ++++ bezeichnet. Keine Veränderung in der Farbe oder nur geringe Abweichung, aber Grün noch vorherrschend, wird als Ø bis + bezeichnet.

Tabelle 1. Auswertung des S n y d e r - Tests
(nach L a m m e r s u. H a f e r, 18)

Kariesaktivität	Farbumschlag nach einer Bebrütungsdauer in Stunden		
	24	48	72
stark	positiv	----	----
mittel	negativ	positiv	----
schwach	negativ	negativ	positiv
negativ	negativ	negativ	negativ

S n y d e r und C l a r k e (30) verglichen die Ergebnisse des S n y d e r - Tests mit dem Laktobazillus-Index an Hand von 2 000 Speichelproben. Es ergab sich, dass bei einer Laktobazillenzahl unter 10 000 binnen 24 Stunden in 98 %, binnen 48 Stunden in 71,5 % in den Snyderkulturen keine Farbänderung erfolgte. Bei Laktobazillenzahlen von über 10 000 erfolgte ein Farbumschlag binnen 24 Stunden bei 33,4 %, innerhalb 48 Stunden bei 90 % aller Kulturen.

Bei den von R i z z o und T i l l e n (23) durchgeführten klinischen und bakteriologischen Untersuchungen an 140 Kindern ergab sich, dass im S n y d e r - Test-Agar und auf dem Nährboden nach D a v i e s, S l a c k und T i l l e n die Befunde in manchen Fällen früher positiv waren, als die Zahl

der Milchsäurestäbchen auf den vergleichenden Nährböden aus Tomatensaft-Agar. Mit dieser Feststellung ist vielleicht eine etwas grössere Leistungsfähigkeit der acidogenen Tests in der Vorhersage des Kariesauftretens angezeigt.

2. Klinisch bedeutsame Aussagen der Kariestests

Die bakteriologischen und bakteriologisch-chemischen Bestimmungsverfahren für die Intensität der kariogenen Noxe lassen Aussagen über die Kariesdisposition des Individuums zu, welche in 80 - 90 % mit der klinischen Beobachtung übereinstimmen, die Jahre braucht, um die momentan vorliegende, individuelle Anfälligkeit für Karies festzulegen.

Die Bedeutung der Kariestests liegt aber nicht nur in der Festlegung einer momentan bestehenden Kariesdisposition des einzelnen Menschen, sondern vor allem darin, dass sie die Wirkung kariesfördernder oder karieshemmender Faktoren innerhalb kurzer Zeit objektivieren. Daher gaben sie uns - erstmalig in der Geschichte der Bekämpfung der Karies - die Möglichkeit in die Hand, beim einzelnen Menschen eine kontrollierte Kariesprophylaxe durchzuführen (18).

Für Reihenuntersuchungen sind die Säurebildungstests, vor allem der Snyder-Test, am besten geeignet. Alle anderen Testverfahren erfordern mehr Aufwand an Arbeit und Material, sie sind also weitgehend der wissenschaftlichen Forschung vorbehalten.

Eine wesentliche Voraussetzung bei der Anlegung der Testkulturen stellt die strenge Einhaltung gleicher Untersuchungsbedingungen dar.

III. Langfristige Untersuchungen über den Ausfall der Kariestests bei der kariesfreien Ratte

Die Frage nach einem gelegentlich positiven Ausfall der Kariestests bei der kariesfreien Ratte konnte nur durch häufig wiederholte Untersuchungen von Rattenkollektiven verschiedenen Lebensalters, Geschlechts und mehreren Generationen experimentell beantwortet werden.

Aus diesem Grunde wählten wir für unsere Versuche 10 weisse Ratten aus, die über 3 Generationen hinweg innerhalb eines Zeitraumes von einem Jahr getestet wurden.

Besondere Schwierigkeiten machte die Übertragung der beim Menschen erprobten Untersuchungsmethoden auf das Tier, weil hier eine Beziehung der Speichelkeimzahl zur Speichelmenge, wie sie z.B. im H a d - l e y schen Laktobazillus-Index verwertet wird, infolge der geringen Speichelsekretion der Ratte nicht möglich war.

Die Speichelentnahme war uns mit Hilfe eines sterilen Stiltupfers möglich, der mehr oder weniger Speichel und damit Speichelkeime aufnehmen konnte.

Im Gegensatz zur H a d l e y schen Methode war hier die Speichelmenge unterschiedlich, und daher musste zunächst einmal festgestellt werden, wieviel Speichelkeime überhaupt von dem Tupfer aufgenommen und an Nährböden abgegeben werden.

Nach einer Reihe von Vorversuchen wählten wir folgendes Vorgehen :

1. Untersuchungsmethodik

a. Speichelentnahme

Eine Probe der Mikroflora aus der Rattenschnauze erhielten wir, indem wir mit einem sterilen Diphterie-

tupfer, der vorher mit einer sterilen 1 % igen Dextrosebouillon (p_H 6,4) angefeuchtet worden war, über die unteren Molaren der rechten Seite strichen, und zwar je 10 mal in sagittaler und transversaler Richtung. Das Tier wurde bei der Abstrichnahme von einem Kollegen gehalten, der gleichzeitig die Kiefer zwischen den Frontzähnen mit einer sterilen anatomischen Pinzette sperrte. Zu beachten war bei diesem Vorgehen, dass der Wattetupfer nicht durch Abwehrbewegungen der Ratte mit deren Vorderfüßen oder der äusseren Schnauze in Berührung kam.

b. Verarbeitung auf Nährböden

Der Tupfer mit dem anhaftenden Speichel wurde zunächst in 10 ml 1 % iger, steriler Traubenzucker - bouillon ausgeknetet. Den Keimreichtum dieser Traubenzuckerbouillon werteten wir wie folgt aus :

Um einen Anhalt über den Keimreichtum der Traubenzuckerbouillon zu gewinnen und damit das Auftreten von säurebildenden Keimen in Relation zur Gesamtkeimzahl stellen zu können, wurde zunächst eine Nähragarplatte mit der infizierten Nährlösung beimpft.

Es hatte sich in den Vorversuchen als notwendig erwiesen, die infizierte Nährbouillonlösung im Verhältnis 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung weiter zu verdünnen, um zu zählbaren Einzelkolonien zu kommen; und zwar beimpften wir gleichmässig die Oberfläche einer Nähragarplatte (p_H 7,4) mit 0,1 ml dieser Verdünnung.

Die Zahl der auf diesem Nährmedium nach 48 stündiger Bebrütung bei 37 Grad C gewachsenen Kolonien setzten wir in Relation zur Zahl der Kolonien säuretoleranter Bakterien bzw. zum Ausfall der sogenannten Schnelltests (Snyder- und SL-Test).

Die Zahl säuretoleranter Keime in der infizierten Nährlösung bestimmten wir wie folgt :

0,1 ml der infizierten Nährlösung verarbeiteten wir gleichmässig auf der Oberfläche mit Essigsäure angesäuerter, 2 % iger Traubenzucker - agarplatten (p_H 5,0). Nach 72 stündiger Bebrütung bei 37 Grad C zählten wir die Zahl der gewachsenen Kolonien aus, bei denen es sich im wesentlichen um Milchsäurestäbchen gehandelt hat. Die Zahl gewachsener Hefekolonien blieb unberücksichtigt.

Die sogenannten Schnelltests legten wir wie folgt mit der infizierten Nährlösung an :

0,2 ml der infizierten und 1 : 10 verdünnten Nährlösung wurden mit einer sterilen Ampullenspritze in ein Fläschchen mit 5 ml verflüssigtem Snyder - Test-Agar gegeben. Der Agar wurde durch 10 Minuten langes Erhitzen der Fläschchen im kochenden Wasserbad verflüssigt und dann auf 45 Grad C abgekühlt. Wir mischten den Nährboden mit der Impfpombe durch kräftiges Rollen der Fläschchen zwischen den Händen und liessen erstarren, indem wir die Fläschchen eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen liessen. Die beimpften, erstarrten Nährböden wurden 72 Stunden bei 37 Grad C bebrütet und die Farbänderungen nach 24, 48 und 72 Stunden abgelesen. Farbänderungen von Blaugrün nach Gelb wurden als + bis +++ bezeichnet. Keine Veränderung des Farbtons oder nur geringe Abweichung wurde als $\emptyset$ bis $\pm$ bezeichnet.

Mit der gleichen Spritze legten wir eine Stichkultur in dem Nährboden von Rogosa und Wiseman (SL - Agar) an. Die beimpften Nährböden wurden dann 48 Stunden bei 37 Grad C bebrütet und die Farbänderungen nach 24 und 48 Stunden abgelesen. Eine Farbänderung von Rot nach Gelb wurde als + bis +++ bezeichnet. Keine Veränderung der Farbe oder nur geringe Abweichung bewerteten wir mit $\emptyset$ bis $\pm$.

c. Klinische und histologische Beurteilung der Kariesaktivität

Um Sicherheit darüber zu erlangen, dass unsere Versuchstiere während des Versuchs kariesfrei blieben, beurteilten wir den Gebisszustand bei jeder Generation am Ende der Versuchszeit wie folgt:

Klinisch :

Nachdem die Tiere ein durchschnittliches Alter von 150 Tagen erreicht hatten, wurden sie durch Chlo-roform unter einer Glasglocke getötet. Die Ober- und Unterkiefer wurden herauspräpariert und zunächst makroskopisch auf kariöse Läsionen untersucht.

Histologisch :

Bei Kariesverdacht führten wir auch histologische Untersuchungen durch. Die Präparate wurden bis zur Anfertigung histologischer Schnitte in Formol aufbewahrt. Die Schnitte wurden mit der von B ü t t n e r (1) angegebenen Apparatur zur Herstellung von Serienschnitten angefertigt, gefärbt und unter dem Binokular-Mikroskop untersucht.

2. Untersuchungsergebnisse

Die bei den einzelnen Generationen unserer Versuchstiere erzielten Untersuchungsergebnisse finden sich auf den Tabellen 2 bis 4.

Um die im einzelnen in den Tabellen aufgeführten Ergebnisse anschaulicher zu gestalten, geben wir sie an Hand von graphischen Darstellungen (Abb. 3 bis 12) erneut wieder.

Tier	13. IV. 51	20. IV.	27. IV.	3. I. 52	10. I.	17. I.	24. I.	31. I.	7. II.	14. II.	14. II.	21. II.	28. II.
1 ♀	Gewicht	1105	1172	1189	1252	1423	1535	1643	1752	1872	1923	1952	2023
	Nahrung	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Traubenzuckeragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Snyder-Test nach 14. 4. 8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SL-Test nach 14. 4. 8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 ♂	Gewicht	1409	1592	1752	1952	2123	2352	2503	2572	2602	2672	2742	2812
	Nahrung	29	2	2	28	75	12	22	42	9	20	9	25
	Traubenzuckeragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Snyder-Test nach 14. 4. 8. Std.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	SL-Test nach 14. 4. 8. Std.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 ♂	Gewicht	1682	1792	1802	1982	2172	2322	2372	2542	2902	2952	3102	3492
	Nahrung	35	7	0,5	12	38	12	6,3	32	9	12	4,5	9
	Traubenzuckeragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Snyder-Test nach 14. 4. 8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
	SL-Test nach 14. 4. 8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
4 ♀	Gewicht	1082	1132	1072	1252	1422	1612	1812	1932	1982	1932	2042	2042
	Nahrung	11,7	27,6	24	2,5	17	3,2	1,1	33	2,6	3	5,5	11
	Traubenzuckeragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Snyder-Test nach 14. 4. 8. Std.	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SL-Test nach 14. 4. 8. Std.	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 ♀	Gewicht	1102	1202	1202	1392	1602	1852	1992	1992	2002	2052	2182	2242
	Nahrung	3,5	7,8	0,5	16	11	5	12	18	4,2	2	2	3,5
	Traubenzuckeragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Snyder-Test nach 14. 4. 8. Std.	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	SL-Test nach 14. 4. 8. Std.	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 2a. Ausfall der Kariestests bei der 1. Generation unserer Versuchstiere.
(1. Tierkollektiv)

Tier	13. III. 51	20. III.	27. III.	3. IV. 51	10. IV.	17. IV.	24. IV.	31. IV.	7. V.	14. V.	21. V.	28. V.
6												
6	136 g	147 g	160 g	182 g	200 g	223 g	248 g	262 g	247 g	280 g	296 g	285 g
♂	16	9	6.5	4.6	7	7.8	9.1	6.8	16	3.6	1.7	6
Traubenzuckerragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Snyder-Test nach 24.4.8. 72 Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SL-Test nach 24.4.8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7												
7	122 g	130 g	135 g	147 g	162 g	189 g	195	142 g	179 g	185 g	217 g	235 g
♀	22	9	1.2	2.2	9.2	3.4	1.2	3.2	2.8	1.7	2.8	6
Nähragar	0	0	0.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Traubenzuckerragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Snyder-Test nach 24.4.8. 72 Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SL-Test nach 24.4.8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8												
8	113 g	117 g	117 g	120 g	152 g	170 g	157 g	175 g	108 g	177 g	189 g	222 g
♀	4	10	0.4	7.4	10	10	8.7	6.6	14	2.4	14	6.7
Nähragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Traubenzuckerragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Snyder-Test nach 24.4.8. 72 Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SL-Test nach 24.4.8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9												
9	134 g	140 g	150 g	159 g	194 g	223 g	208 g	210 g	245 g	232 g	266 g	278 g
♂	12.8	3.2	2	8.2	4.6	6.6	4.5	8.1	70	12	6.5	4
Nähragar	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Traubenzuckerragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Snyder-Test nach 24.4.8. 72 Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SL-Test nach 24.4.8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10												
10	107 g	113 g	112 g	114 g	141 g	159 g	150 g	160 g	179 g	170 g	174 g	177 g
♀	11.5	2.3	3	14	9.1	2.3	7.8	1.8	2.7	1.1	2	1.2
Nähragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Traubenzuckerragar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Snyder-Test nach 24.4.8. 72 Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SL-Test nach 24.4.8. Std.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 2b. Ausfall der Kariestests bei der 1. Generation unserer Versuchstiere.
(2. Tierkollektiv)

[illegible]

Tabelle 4. Ausfall der Kariestests bei der
3. Generation unserer Versuchstiere

Tier		27. VII.	10. IX.	1. X.	22. X.	19. XI.	10. XII.	
1	♀	Gewicht	32 g	70 g	80 g	95 g	138 g	168 g
		Nähragar	1	16	1	1	7	8
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	12
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
2	♀	SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/4
		Gewicht	39 g	75 g	88 g	110 g	197 g	155 g
		Nähragar	8	16	2	3	3	5
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	6
3	♂	Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
		Gewicht	34 g	80 g	102 g	133 g	224 g	270 g
		Nähragar	6	8	7	4	16	4
4	♂	Traubenzuckeragar	8	8	8	1,5	2	5
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
		Gewicht	40 g	85 g	100 g	128 g	195 g	220 g
5	♀	Nähragar	2	5	5	3	6	4
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	4
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
6	♀	Gewicht	35 g	70 g	76 g	97 g	160 g	170 g
		Nähragar	1	14	1	3	5	1
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	3
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
7	♂	SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
		Gewicht	35 g	74 g	82 g	140 g	155 g	166 g
		Nähragar	5	8	7	3	2	6
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	11
8	♂	Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/4
		Gewicht	35 g	75 g	75 g	114 g	190 g	205 g
		Nähragar	13	11	20	4	7	6
9	♀	Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	8
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
		Gewicht	35 g	75 g	84 g	125 g	185 g	225 g
10	♂	Nähragar	16	4	17	6	2	1
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	8
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
11	♀	Gewicht	27 g	64 g	76 g	110 g	150 g	170 g
		Nähragar	1,5	6	8	5	2	1
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	1
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
12	♀	SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
		Gewicht	33 g	64 g	70 g	105 g	179 g	157 g
		Nähragar	1,5	26	38	4	4	12
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	7
13	♀	Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
		Gewicht	33 g	64 g	70 g	105 g	179 g	157 g
		Nähragar	1,5	26	38	4	4	12
14	♀	Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	7
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1
		Gewicht	33 g	64 g	70 g	105 g	179 g	157 g
15	♀	Nähragar	1,5	26	38	4	4	12
		Traubenzuckeragar	8	8	8	8	8	7
		Snyder-Test nach 24, 48, 72 Std.	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0/0	1/1/1
		SL-Test nach 24, 48 Std.	8	8	8	8	8	1/1

Abb.3. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr. 1

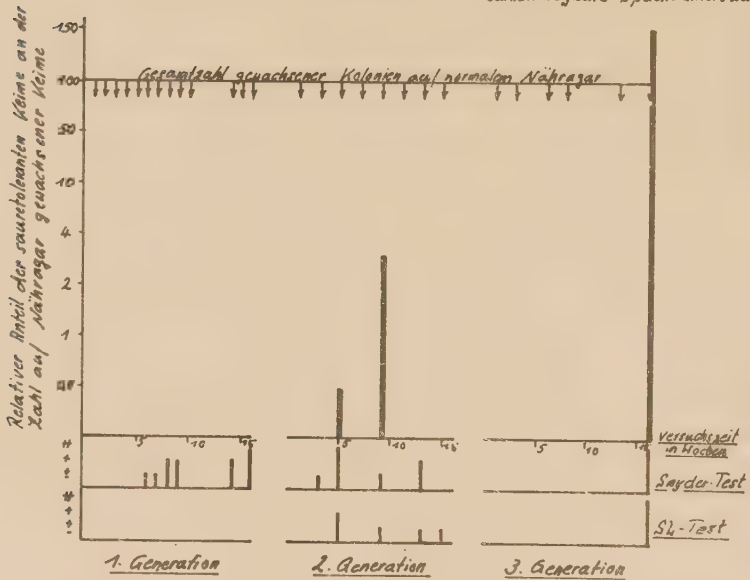


Abb.4. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr. 2

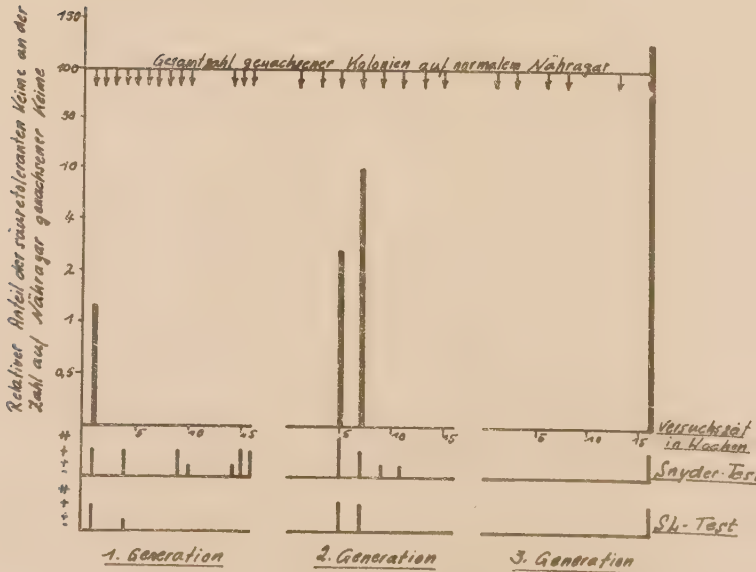


Abb.5. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr. 3

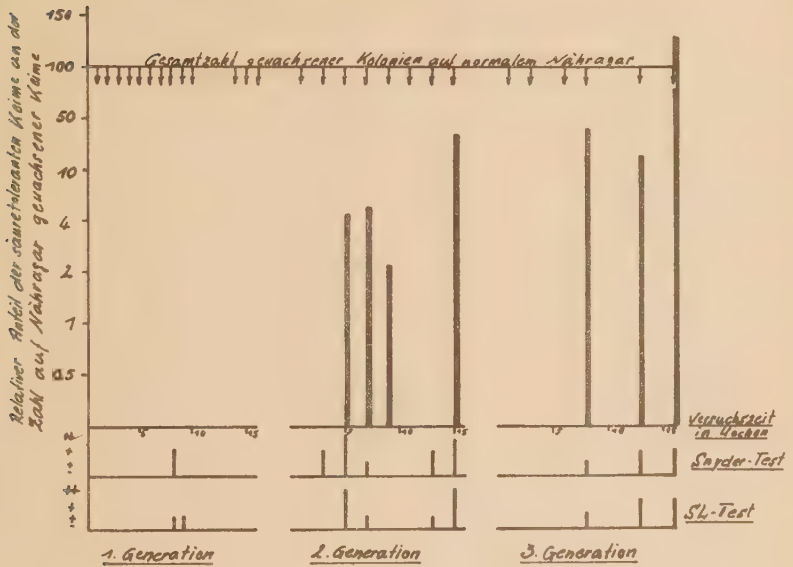


Abb.6. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr. 4

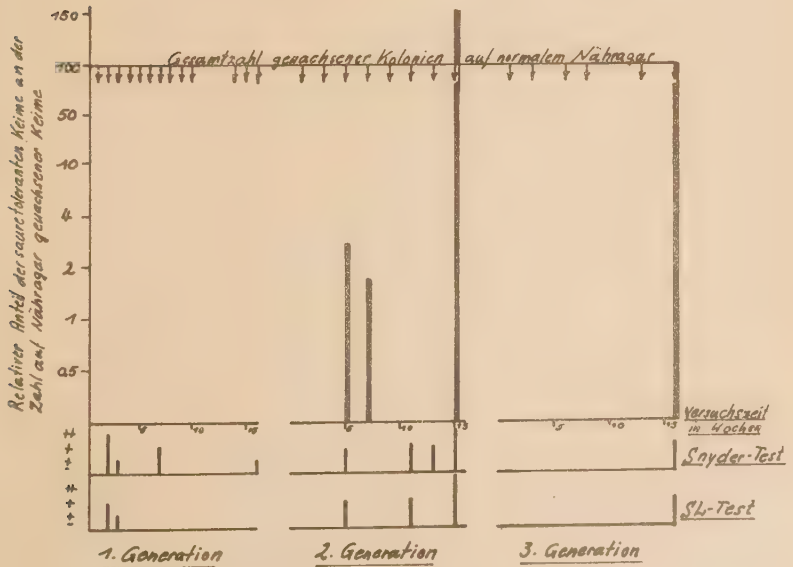


Abb.7. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr.5

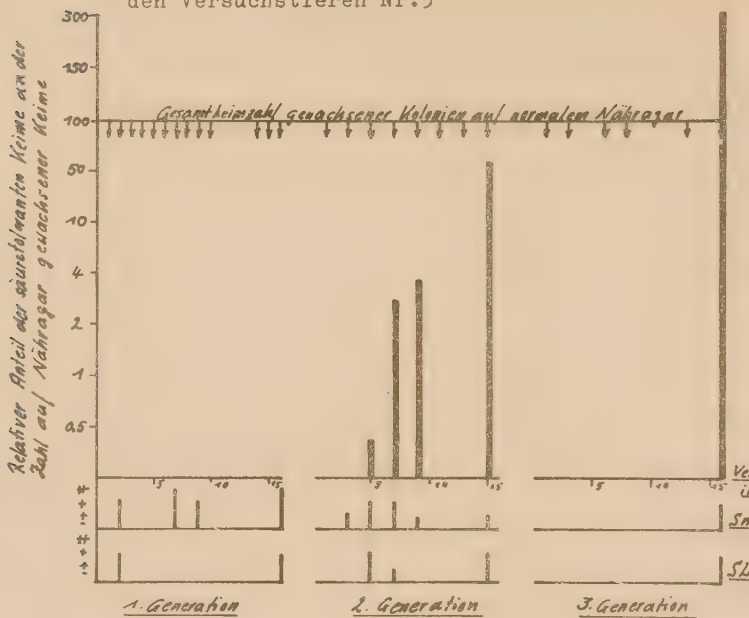


Abb.8. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr.6



Abb.9. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr.7



Abb.10. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr. 8

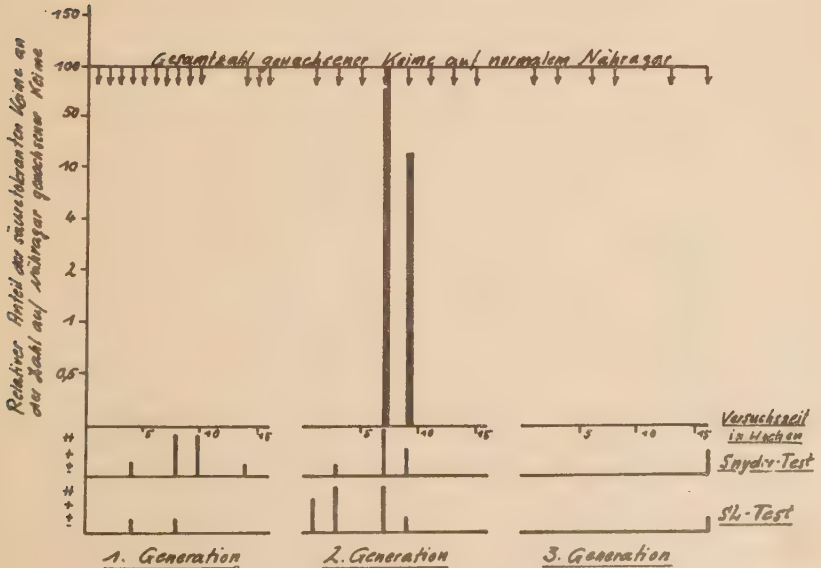
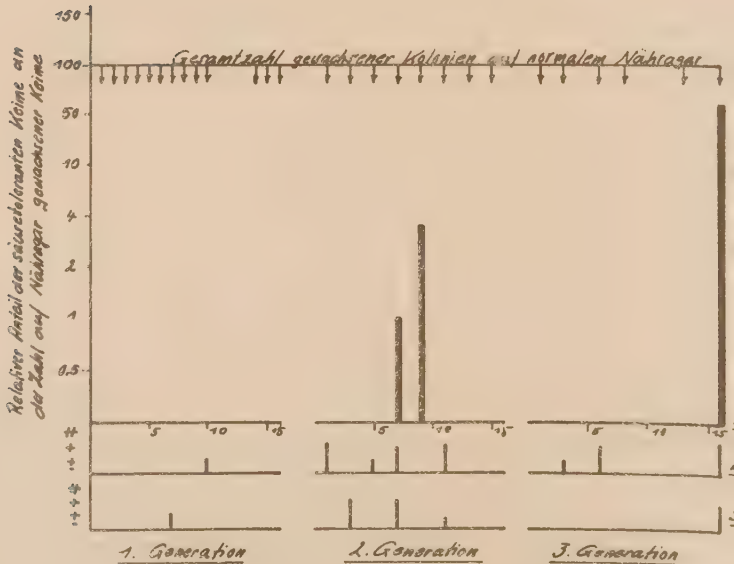


Abb.11. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr.9



Abb.12. Graphische Darstellung der Kariestests bei den Versuchstieren Nr.10



Überblicken wir die in den graphischen Darstellungen angeführten Ergebnisse, so müssen wir zunächst einmal feststellen, dass säuretolerante Milchsäurestäbchen auch bei Albinoratten ohne kariogene Kost im Speichel auftreten können. Die Keimzahlen bewegen sich zwischen 0 und 28 nach unserer Auszählung pro cm^2 auf der angesäuerten Traubenzuckeragarplatte. Diese Werte entsprechen ungefähr 0 bis 180 000 Laktobazillen pro ml unserer infizierten Nährlösung.

Neben dem Vorkommen von Laktobazillen waren auch die sogenannten Schnelltests bei kariesfreien Ratten gelegentlich positiv. Der Ausfall der Säurebildungstests korreliert mit den Laktobazillenzahlen wie folgt :

Traten säuretolerante Milchsäurestäbchen im Rattenspeichel auf, so fielen die sogenannten Schnelltests positiv aus. Eine Ausnahme bilden die Tiere 3, 4 und 10 in der 2. Generation, die trotz positivem Laktobazillus-Index weder im S n y d e r - Test noch im SL - Test positive Ergebnisse zeigen. Die Tiere 5 und 6 der 2. Generation hatten bei Laktobazillenzahlen von 2 000 pro ml infizierter Nährlösung nur jeweils ein positives Ergebnis in einem der beiden acidogenen Tests.

Wir konnten weiterhin beobachten, dass in einigen Fällen die Ausfälle im S n y d e r - Test oder im SL - Test oder auch in beiden Tests gleichzeitig positiv waren, ohne dass Laktobazillen im Rattenspeichel nachweisbar waren.

Der S n y d e r - Test neigte am stärksten zum unspezifisch positiven Ausfall. Überblicken wir unsere Ergebnisse mit dem S n y d e r - Test, so wird deutlich, dass der positive Ausfall dieses Tests weniger abhängig von Laktobazillen und Streptokokken ist, als vielmehr von der Gesamtkeimzahl mit der das Nährmedium beimpft wurde. So z.B. war der Test negativ bei Keimzahlen von durchschnittlich

150 000 pro ml der infizierten Nährlösung und wurde positiv bei Keimzahlen von ungefähr 200 000 pro ml infizierter Nährlösung. Diese Feststellung wird dadurch leicht erklärlich, dass der S n y d e r - Test die Säureproduktion der gesamten Speichelflora angibt.

Versuchen wir nun eine Abhängigkeit des Auftretens der Laktobazillen vom Lebensalter, der Generation und besonderen Ereignissen wie z.B. Schwangerschaft aufzudecken, so können wir aus unseren Versuchsergebnissen folgendes feststellen :

a. Generation

Auffallend bei unseren Ergebnissen ist das geringe Auftreten von Milchsäurestäbchen in der 1. Generation im Vergleich zu dem häufigen Vorkommen von Laktobazillen und den positiven Ausfällen der Schnelltests in der 2. Generation unserer Versuchstiere. Während wir in der 1. Generation nur in drei Speichelproben säuretolerante Milchsäurestäbchen fanden, traten diese Speichelkeime in der 2. und 3. Generation bedeutend häufiger und in grösserer Zahl auf.

b. Lebensalter

Wenn wir nun das Auftreten von Laktobazillen in Korrelation zum Lebensalter setzen wollen, so konnten wir feststellen, dass bei unseren Versuchstieren die Keimzahl an Milchsäurestäbchen ihre höchsten Werte in einem Lebensalter der Ratte von 8 - 12 Wochen erreichte. Während dieser Zeit zeigten auch die Säurebildungstests ihre häufigsten und höchsten positiven Werte.

c. Geschlecht

Eine Abhängigkeit des Auftretens von Milchsäurestäbchen vom Geschlecht konnten wir insofern feststellen, als die weiblichen Ratten kurz vor und nach dem Werfen geringe positive Ausfälle der Karies - tests aufwiesen.

3. Diskussion der erzielten Untersuchungsergebnisse

Für die Brauchbarkeit der sogenannten Schnelltests in der tierexperimentellen Kariesforschung war es von ausschlaggebender Bedeutung, die Frage zu beantworten, ob unspezifisch positive Ausfälle der Ergebnisse auftreten, und welche Ursachen zu einem solchen Ausfall führen.

Wie wir bereits erwähnt haben, zeigte in unseren Versuchen der S n y d e r -Test die häufigsten, unspezifisch positiven Ausfälle. Da diese Ergebnisse möglicherweise durch Keime hervorgerufen werden, die normalerweise im Rattenspeichel nicht auftreten, haben wir experimentell auch die Frage überprüft, welche Keime neben Staphylokokken, Streptokokken und säuretoleranten Milchsäurestäbchen das S n y d e r -Medium so ansäuern, dass ein Farbumschlag auftritt. Dabei zeigte es sich, dass bestimmte gasbildende Colibakterien zu einem unspezifisch positiven Ausfall führen.

Die Gasbildung durch Colibakterien im S n y d e r -Medium ist aber bei der üblichen Auswertung nicht unterscheidbar von der Gasbildung durch Milchsäurestäbchen, wie es von amerikanischen Forschern beobachtet wurde.

T i l d e n und S v e c (36) entdeckten bei ihren Versuchen, dass verschiedene Laktobazillen, wenn sie auf dem S n y d e r -Medium getestet wurden, in der Lage waren, ausser schwachen Säuren auch Gas zu bilden. Die häufigsten gasbildenden Laktobazillen gehörten zur Gruppe der L. fermenti und wurden in mehr als der Hälfte aller Speichelproben gefunden. Gasbildende Laktobazillen ergaben oft kein ++++ Ergebnis, selbst nach 72-stündiger Bebrütung.

Eine weiter auffällige Beobachtung bei der Aus-

wertung der Ergebnisse der S n y d e r - Tests war das gelegentliche Auftreten von winzigen, dunkelgrünen Punkten in diesem Nährboden.

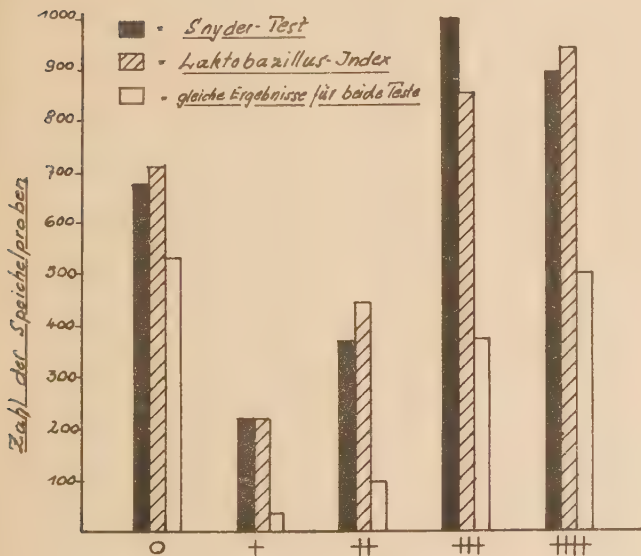
Diese Beobachtung wurde schon von S c r i v e n e r (29) gemacht, und die Art dieser eigentümlichen Kolonien geklärt. Man hielt früher die grünen Punkte, die häufig in positiven S n y d e r - Tests auftraten, für pigmentbildende oder dichte, undurchsichtige Bakterienkolonien, die in den Nährböden wuchsen. S c r i v e n e r vermutete, dass diese Punkte nichts anderes als Stellen in dem Agar waren, wo der Farbumschlag durch die Einwirkung der an dieser Stelle anwesenden Bakterien verhindert war. Keinkulturen wurden von einer Auswahl dieser Punkte angelegt und zeigten im histologischen Präparat vor allem Aktinomyceten und Hefen. Wurden Suspensionen dieser Organismen Speichelproben zugefügt, die man von kariesaktiven Personen erhalten hatte, und überimpfte dieses Material, nachdem es einige Stunden gestanden hatte, auf S n y d e r - Test-Agar, trat der charakteristische Farbumschlag nicht auf. Dieses Ergebnis ist vermutlich durch die Zerstörung oder Inaktivierung der säurebildenden Speichelorganismen durch die antagonistische Wirkung der hinzugefügten Bakterien verursacht.

Besonders interessant in diesem Zusammenhang sind die eingehenden Untersuchungen von C o h e n (2), der den S n y d e r - Test mit dem Laktobazillen-Index unter Verwendung des SL-Mediums an Hand von 3147 Speichelproben von 1049 Matrosen verglich. Die grösste Übereinstimmung zwischen den beiden Tests fand sich in den extremen Werten (0 und + + + +), während die Ergebnisse der mittleren Werte (+ , + + , + + +) anteilmässig nicht eng übereinstimmten, dennoch aber dem gleichen Verteilungsmodus folgten. Dies mag anzeigen, dass die Einteilung der Tests in diesem Bereich nicht hinreichend definitiv ist, dass aber die gleichen Faktoren, die einen

dieser Tests beeinflussen, auf den anderen Test in gleichem Masse einwirken (s.Tab. 5 und Abb. 13)

Tabelle 5 und Abb. 13. Verhältnis von S n y d e r-Test zum Laktobazillus-Index (nach C o h e n, 2)

Snyder-Test	Zahl der Speichelproben	Laktobazillus-Index (SL-Agar)				
		0 (0-240 Keime)	+	++	+++	++++
0	675	551	47	39	36	22
+	220	74	34	40	40	32
++	370	59	63	94	95	59
+++	996	27	64	211	370	324
++++	886	17	12	56	304	497



C o h e n (2) schreibt das Fehlen einer vollständigen Übereinstimmung der Ergebnisse der unterschiedlichen Kariestests mehreren Ursachen zu :

1.) Die Bildung von schwachen Säuren nicht nur durch Laktobazillen, sondern auch durch andere Speichelkeime.

2.) die Unterschiedlichkeit in der Gärungsfähigkeit, wie z.B. manche homofermentativen Organismen nur eine geringe p_H - Änderung bewirken, während einige heterofermentativen Speichelkeime, die ausser Milchsäure noch andere Säuren produzieren und verschiedene Kohlenhydrate vergären, eine grosse p_H - Änderung bewirken.

3.) Die Möglichkeit eines experimentellen Fehlers.

Da in der experimentellen Kariesforschung an der Ratte nur wenig über die Kariestests bekannt ist, müssen wir uns hier darauf beschränken, die am Menschen und an Hamstern gewonnenen Ergebnisse mit den unsrigen zu vergleichen.

S u l l i v a n und S t o r v i c k (35) untersuchten 555 Schulkinder und fanden eine sehr bedeutsame Übereinstimmung zwischen dem S n y d e r - Test und dem Laktobazillus - Index nach der H a d - l e y schen Methode.

F i t z g e r a l d (5) berichtet ebenfalls von einer positiven Korrelation zwischen dem S n y d e r - Test und dem Auftreten von Laktobazillen bei Untersuchungen von Speichelproben einer Gruppe von 30 Erwachsenen, sowohl auf dem SL - Agar als auch auf dem Tomatensaft - Agar.

R o g o s a , J o h a n s e n , D i s r a e l y und B e a m a n (27) untersuchten die Korrelation zwischen der Zahl auf SL - Agar gewachsener Milchsäurestäbchen und der Karies beim syrischen Hamster. Speichelproben wurden mit sterilen Pipetten gewonnen und eine Öse mit 5 ml einer 0,03 % igen Hefeextraktlösung verdünnt. Diese infizierte Nährlösung wurde mit aqua dest. auf 1 : 50 und 1 : 500 weiter verdünnt und auf SL - Agar ausgestrichen, dem 0,5 % L-Arabinose und 1 % Sucrose zugesetzt, und dessen Glukoseanteil auf 1 % herabgesetzt war. Nur die männlichen Tiere zeigten eine Übereinstimmung zwischen den Laktobazillen im Speichel und der klini-

schen Karies.

Diese Befunde decken sich mit unseren Ergebnissen, nach denen ebenfalls die weiblichen Ratten die häufigsten, unspezifisch positiven Ausfälle zeigten.

H e l m a n und M i t c h e l l (9) sahen als Ursache der positiven Ergebnisse der Kariestests bei Hamstern eine Koprophagie an, wobei intestinale Milchsäurestäbchen den positiven Ausfall bewirken.

IV. Zusammenfassung

Die Übertragung sogenannter Kariestests auf die experimentelle Kariesforschung am Versuchstier setzt die Kenntnis unspezifisch positiver Ergebnisse dieser Tests bei der Ratte und deren möglichen Ursachen voraus. Durch langfristige Untersuchungen an drei Rattengenerationen und bakteriologischer Auswertung von 270 Speichelproben dieser Tiere mit Hilfe der sogenannten Kariestests, beantworteten wir die Frage, ob auch beim kariesfreien Versuchstier ein positiver Ausfall der Kariestests möglich ist.

Langfristige Untersuchungen an Ratten als Versuchstieren über das qualitative und quantitative Vorkommen von Laktobazillen ergaben, dass normalerweise säuretolerante Milchsäurestäbchen in der Rattenschnauze fehlen. Dennoch traten sporadisch solche Mengen von Laktobazillen auf, dass Karies - tests positiv ausfielen.

Von den Kariestests zeigte der S n y d e r - Test die häufigsten unspezifischen Werte, die besonders bei weiblichen Ratten in Erscheinung traten. Aber nicht nur dieser Kariestest, sondern auch die Zählung der Laktobazillen und der S L - Test fielen gelegentlich schwach bis deutlich positiv aus.

Unsere Untersuchungsergebnisse bedeuten, dass bei der Bewertung der Kariestests am Versuchstier ein möglicher, unspezifisch positiver Ausfall berücksichtigt werden muss.

Literaturverzeichnis

- 1) Büttner, W.: Dtsch. zahnärztl. Z. 11 : 1068 (1956)
- 2) Cohen, M. M.: J. Dent. Res. 36 : 375 (1957)
- 3) Davies, G. N., Slack, G. L., und Tilden, E. B.: J. Dent. Res. 27 : 149 (1948)
- 4) Eirich : med. Diss. Mainz 1950
- 5) Fitzgerald, R. J.: J. Dent. Res. 31 : 189 (1952)
- 6) Fosdick, L. S. und Rapp, G. W.: J. Dent. Res. 23 : 85 (1944)
- 7) Hadley, F. P.: J. Dent. Res. 13 : 415 (1933)
- 8) Harrison, R. W.: J. Amer. Dent. Assoc. 37 : 391 (1948)
- 9) Helman, E. Z. und Mitchell, D. F.: J. Dent. Res. 32 : 596 (1953)
- 10) Hemmens, E. S., Blayney, J. R., Bradel und Harrison, R.: J. Dent. Res. 25 : 202 (1946)
- 11) Jay, P., Crowley, Hadley, F. P. und Bunting, R.: J. Dent. Res. 14 : 97 (1934)
- 12) Jay, P.: J. Amer. Dent. Assoc. 37 : 416 (1948)
- 13) Kesel, R. G.: J. Amer. Dent. Assoc. 30 : 25 (1943)
- 14) Krasse, B.: Odontol. Revy 5 : 241 (1954)
- 15) Kulp und White, W. L.: Science 76 : 17 (1932)
- 16) Lammers, Th.: Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. 18 : 378 (1953)
- 17) Lammers, Th.: Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. 18 : 448 (1953)
- 18) Lammers, Th., Hafer, H.: Biologie der Zahnkaries Heidelberg: Dr. A. Hüthig (1956)
- 19) Neuwirth, J. und Summerson, W. H.: J. Dent. Res. 30 : 100 (1951)
- 20) Orland, F. J.: J. Dent. Res. 25 : 455 (1946)
- 21) Orland, F. J. und Blayney, J. R.: J. Dent. Res. 33: 147 (1954)
- 22) Palmer, H. B., Laffer, N. C. und Faber, J. E.: J. Dent. Res. 34 876 (1955)
- 23) Rizzo, D. R. und Tilden, E. B.: J. Dent. Res. 31 : 825 (1952)

- 24) Rodriguez, F.E.: J.Amer.Dent.Assoc. 18 : 2118
(1931)
- 25) Rogosa, M., Mitchell, J.A. und Wiseman, R.F.: J.Dent.
Res. 30 : 682 (1951)
- 26) Rogosa, M. und Wiseman, R.F.: J.Dent.Res. 31 :
470 (1952)
- 27) Rogosa, Johanson, Disraely und Beaman : J.Dent.
Res. 36 : 695 (1957)
- 28) Rosen, S., Benarde, M.A., Hunt, H.R. und Hoppert, C.A.:
J.Dent.Res. 34 : 115 (1955)
- 29) Scrivener, Ch.A.: J.Dent.Res. 31 : 471 (1952)
- 30) Snyder, M.L. und Clarke, B.S.: J.Dent.Res. 29 :
298 (1950)
- 31) Snyder, M.L.: J.Dent.Res. 19 : 349 (1940)
- 32) Snyder, M.L.: J.Amer.Dent.Assoc. 28 : 44 (1941)
- 33) Stephan, R.M.: J.Amer.Dent.Assoc. 27 : 718 (1940)
- 34) Stralfors, A.: J.Dent.Res. 27 : 576 (1948)
- 35) Sullivan, J.H. und Storvick, C.A.: J.Dent.Res.
29 : 173 (1950)
- 36) Tilden, E.B. und Svec, M.: J.Dent.Res. 31 : 831
(1952)
- 37) Wade, Smiley und Boruff : J.Bact. 51 : 787 (1946)
- 38) Weinstein, Anderson und Rettger : J.Dent.Res.
13 : 323 (1933)

Herrn Prof.Dr.Th. L a m m e r s gilt mein besonderer Dank für die freundliche Überlassung des Themas und seine wertvollen Ratschläge bei der Anfertigung der Arbeit.

Herrn Prof.Dr.J. K l u c z k a danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Zu grossem Dank bin ich auch den B l e n d a x-Werken in Mainz und Frau Apothekerin H.H a f e r für die Bereitstellung der Nährböden zur Durchführung der biochemischen Testmethoden verpflichtet.

Lebenslauf

Karlheinz Döhn, geb. am 29.März 1929 in Koblenz.

Schulbesuch in Cochem/Mosel und Koblenz .

1948 Abitur am Städt.Gymnasium in Koblenz.

1950 bis 1953 Lehre als Dentistenpraktikant.

1953 bis 1955 Dentistenassistent.

16.Januar 1955 Beginn des zahnmedizinischen Studiums
an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz.

9.März 1956 zahnärztliche Vorprüfung.

17.Dezember 1958 zahnärztliches Staatsexamen.

